

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
16. Mai 2002 (16.05.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/38592 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **C07K 7/00**

(DE). **RÖNSPECK, Wolfgang** [DE/DE]; Mainzer Str. 25,
10715 Berlin (DE). **KUNZE, Rudolf** [DE/DE]; Hessen-
hagen 2, 17268 Stegelitz (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/12933

(22) Internationales Anmeldedatum:
8. November 2001 (08.11.2001)

(74) Anwälte: **MEYERS, Hans-Wilhelm** usw.; Postfach 10 22
41, 50462 Köln (DE).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(81) **Bestimmungsstaaten (national)**: AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
00124418.5 8. November 2000 (08.11.2000) EP

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **AFFINA IMMUNTECHNIK GMBH** [DE/DE];
Robert-Rössle-Str. 10, 13125 Berlin Berlin (DE).

(84) **Bestimmungsstaaten (regional)**: ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

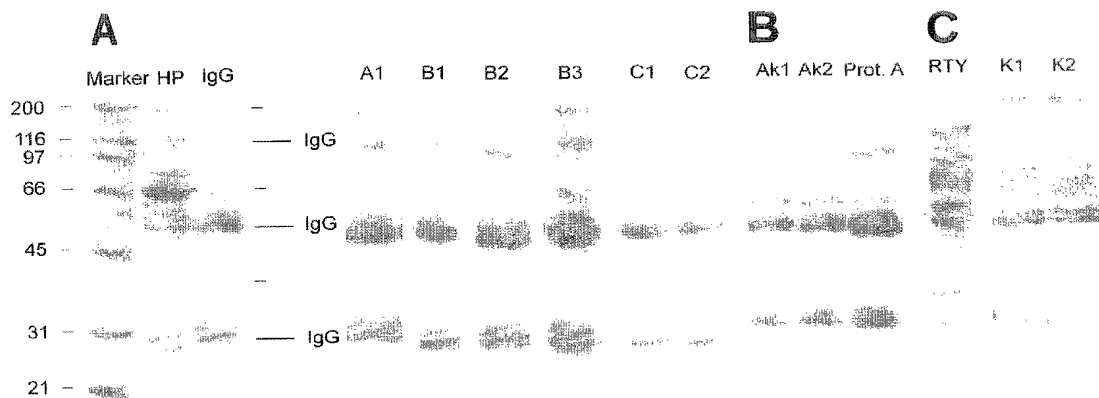
(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **EGNER, Ralf**
[DE/DE]; Silbersteinstr. 128, 12051 Berlin (DE). **WIN-
KLER, Dirk** [DE/DE]; Franz-Mett-Str. 24, 10319 Berlin

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: PEPTIDES, THE PRODUCTION AND USE THEREOF FOR BINDING IMMUNOGLOBULINS

(54) Bezeichnung: PEPTIDE, DEREN HERSTELLUNG UND VERWENDUNG ZUR BINDUNG VON IMMUNGLOBULINEN



(57) **Abstract**: The invention relates to peptides with the following amino acid sequence R¹-X01-X02-X03-X04-X05-X06-X07-X08-X09-X10-X11-X12-X13-R² and the peptides and proteins containing said amino acid sequence. The peptides according to the invention have a high affinity to immunoglobulins. The invention also relates to various uses of the peptides according to the invention.

(57) **Zusammenfassung**: Peptide mit der folgenden Aminosäuresequenz sowie Peptide oder Proteine, die diese Aminosäuresequenz enthalten R¹-X01-X02-X03-X04-X05-X06-X07-X08-X09-X10-X11-X12-X13-R². Diese Peptide weisen eine hohe Affinität zu Immunoglobulinen auf. Beschrieben werden auch Verwendungen der erfindungsgemäßen Peptide.



WO 02/38592 A2



Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Peptide, deren Herstellung und Verwendung zur Bindung von Immunglobulinen

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Peptide mit Affinität zu
5 Immunglobulinen, feste Phasen an denen die erfindungsgemäßen Peptide
gebunden sind, ein Verfahren zur Adsorption von Immunglobulinen, eine
Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens sowie Verwendungen der
erfindungsgemäßen Peptide.

10 Immunglobuline sind bei allen Vertebraten vorkommende Proteinmoleküle, die
der körpereigenen spezifischen Immunabwehr dienen, indem sie an Antigene,
mikrobielle sowie andere körperfremde Strukturen, binden und diese
neutralisieren. Antigenträgende Strukturen wie z.B. in den Körper
eingedrungene Bakterien oder Parasiten sowie virusinfizierte Körperzellen
15 werden durch gebundene Immunglobuline für eine Vernichtung durch ent-
sprechend spezialisierte Zellen oder Molekülsysteme, wie z. B. das Kom-
plementsystem, kenntlich gemacht. Immunglobuline werden je nach der
Struktur ihrer molekularen Untereinheiten verschiedenen Immunglobulin-
klassen zugeordnet, die sich auch hinsichtlich ihrer biologischen Aktivität, wie
20 z.B. der Fähigkeit zur Komplementaktivierung oder Schleimhautgängigkeit
unterscheiden. Allgemein unterscheiden sich alle Immunglobuline, unabhängig
von der Immunglobulinklasse, in ihrer variablen, für das jeweilige Antigen
spezifischen Bindungsstelle. Alle Immunglobuline haben gemeinsame Struktur-
merkmale, über die sie auch gemeinsam gebunden werden können, wobei
25 hierfür die "Fc-Region" genannte molekulare Untereinheit bevorzugt wird
(Davies and Metzger (1983); Alt et al. (1987)).

In der Natur vorkommende Immunglobulin-bindende Moleküle sind vor allem
Oberflächenrezeptoren von Körperzellen, welche die Fc-Region der
verschiedenen Immunglobuline erkennen und an diese binden. Nachdem sie
30 Immunglobuline gebunden haben, werden über die Rezeptoren, in Abhän-

- 2 -

gigkeit von der gebundenen Immunglobulinklasse und dem Zelltyp unterschiedliche Aktivierungsvorgänge ausgelöst (McKenzie and Schreiber (1994); Makiya and Stigbrand (1992); Sarfati et al. (1992); Capron et al. (1992); Shen (1992); Sandor et al. (1992)).

5

Neben Oberflächenrezeptoren binden auch Moleküle des Komplementsystems an die Fc-Region von Immunglobulinen. Das Komplementsystem stellt ein System von aufeinander abgestimmten Proteinen dar, welches der Zerstörung der antigentragenden Zielstruktur dient und zwei unterschiedliche Aktivierungswege aufweist. Bei dem einen – dem klassischen Weg – erfolgt die Aktivierung über die Bindung der Komplementkomponente C1 bzw. deren Untereinheit C1q an die Fc-Region der antigegebundenen Immunglobuline (Miletic and Frank (1995)).

15 Auch einige Bakterien haben Proteine entwickelt, die in der Lage sind, Immunglobuline über die Fc-Region zu binden. Dazu gehören das Protein A der Staphylokokken und das Protein G der Streptokokken. Diese Proteine und deren Abkömmlinge sind interessante Arbeitsmittel in der immunologischen Forschung, beispielsweise beim Studium der Rezeptor-Immunglobulin-Interaktion und finden gekoppelt an eine Trägermatrix breiten Einsatz in der affinitätschromatographischen Reinigung von Immunglobulinen (Stahl et al. (1993)).

25 Ausgehend von dieser Anwendung wurde die therapeutische Immunapherese zur Behandlung von Autoimmunerkrankungen etabliert. Bei diesem Verfahren werden auf der Basis von matrixgekoppeltem Protein A Immunglobuline aus humanem Plasma entfernt und damit auch die Konzentration von pathogenen Autoantikörpern abgesenkt (Belak et al. (1994)).

- 3 -

Auf dem Markt befinden sich derzeit zwei Protein A-Produkte, die sich hinsichtlich der verwendeten Adsorbermatrix unterscheiden. Zum einen wird Protein A immobilisiert an Agarose (Sephacrose) als Trägermatrix verwendet (Immunosorba, Fresenius HemoCare AG/Deutschland) (Samuelsson (1998)),
5 zum anderen findet Kieselgel als Trägermatrix Anwendung (Prosorba, Cypres Bioscience Inc./USA). Die Anwendung der Immunapherese mit Protein A zur Entfernung der Immunglobuline wurde bei verschiedenen Autoimmun-erkrankungen, beispielsweise der Rheumatoiden Arthritis erfolgreich eingesetzt (Felson et al. (1999)).

10

Weiterhin können nach Immunisierung mit Immunglobulinen einer bestimmten Spezies in einer anderen Spezies Antikörper induziert werden, die dann in der Lage sind die Immunglobuline der ersten Spezies zu binden. Hierauf beruht ein Produkt zur therapeutischen Immunapherese, welches matrixgekoppelte
15 Antikörper vom Schafen verwendet, die aus dem Serum der Tiere nach Immunisierung mit menschlichen Immunglobulinen gewonnen werden. Auch dieses System (Ig-Therasorb, PlasmaSelect AG/Deutschland) findet Einsatz bei der Gesamtimmunglobulinentfernung und dient somit auch der therapeutischen Entfernung von pathogenen Antikörpern (Koll (1998)), beispielsweise
20 von Faktor VIII- und Faktor IX-Inhibitoren (Knobl and Derfler (1999)).

Auch matrix-immobilisierte Aminosäuren werden für die therapeutische Immunapherese eingesetzt. Hierzu kommen Adsorber auf Phenylalanin- (IM-PH350, Asahi Medical Co. Ltd. /Japan) und Tryptophanbasis (IM-TR350,
25 Asahi/Japan) zum Einsatz (Jimenez et al. (1993); Fadul et al. (1996)). Die Bindungsfähigkeit dieser Adsorber ist jedoch im Gegensatz zu den vorgenannten Adsorbersystemen nicht auf Immunglobuline beschränkt, sondern es werden auch andere Proteine, wie das für die Gerinnung notwendige Fibrinogen, aus dem Blutplasma entfernt.

30

Ein vollkommen anderes Bindungsprinzip wird bei der Verwendung von Peptiden als Antigen oder Antigenmimetikum zur Entfernung pathogener Autoantikörper angewandt. Beispielsweise wird der Adsorber MG-50 (Kuraray Co. Ltd./Japan) zur Eliminierung von Autoantikörpern gegen den Acetylcholinrezeptor bei der Behandlung von Myasthenia gravis angewendet (Takamori and Ide (1996)). Ein weiteres Beispiel ist die spezifische, immunapheretische Eliminierung von Autoantikörpern gegen den β_1 -adrenergen Rezeptor (EP 99 118 631), Affina Immuntechnik GmbH/Deutschland) bei der Therapie der Dilatativen Cardiomyopathie (DCM). D.h. in den genannten Beispielen werden nur die Immunglobuline entfernt, die gegen das jeweilige Peptidantigen gerichtet sind, während alle anderen Immunglobuline nicht gebunden werden. Die Verwendung von Peptiden zur Bindung ausgewählter Immunglobuline über ihre Antigenbindungsstelle ist Stand der Technik.

Interessanterweise und im Gegensatz zu den oben beschriebenen Peptiden sind in der Literatur auch Peptide beschrieben worden, die nicht über die Antigenbindungsstelle eines Immunglobulins gebunden werden, sondern an die Fc-Region von Immunglobulinen binden. So wurde ein Protein A-mimetisches Peptid beschrieben, das sich zur technischen Reinigung von Immunglobulinen eignet (Fassina et al. (1996) ; Fassina et al. (1998)). Weiterhin wurde ein Peptid beschrieben, das in gepufferter Lösung einen monoklonalen IgG-Antikörper im Bereich der Protein A-Bindungsstelle des Immunglobulins bindet (DeLano et al. (2000)) sowie WO-A-01/45746. Andere ebenfalls in der Fc-Region bindende Peptide, bestehend aus 10 Aminosäuren, wurden von der Arbeitsgruppe um Krook beschrieben (Krook et al. (1998)).

Für die therapeutische Eignung als Pharmakon und/oder für den therapeutischen medizintechnischen Einsatz von Molekülen zur Bindung von Immunglobulinen der Klassen G_1-4 , A und M sind die Spezifität für die genannten Immunglobulinklassen, eine geringe Bindung anderer

- 5 -

Plasmabestandteile sowie die Stabilität des Peptids in Körperflüssigkeiten wie z.B. humanem Plasma oder Serum, elementare Voraussetzungen.

Der Erfindung liegt somit das technische Problem zugrunde, neue Peptide bereitzustellen, die eine hohe Affinität zu Immunglobulinen aufweisen.

- 5 Erfindungsgemäß wird dieses Problem durch synthetische Peptide gelöst, die vorzugsweise selektiv an Immunglobuline, insbesondere der Klassen G_{1-4} , A und M in komplexen Lösungen, wie z. B. Körperflüssigkeiten und nativem humanen Blutplasma, binden und unter diesen Einsatzbedingungen stabil sind.

- Die in diesem Patent beanspruchten Peptide erfüllen die genannten
10 Anforderungen überraschenderweise sowohl in löslicher Form, als auch im immobilisiertem Zustand und sind somit für eine medizinisch-technische und pharmakologische Verwendung geeignet.

- Insbesondere nach Immobilisierung der Peptide über X08 gleich K (Lys) (siehe unten) erfüllen die Peptide die genannten Forderungen, überraschenderweise
15 auch nach thermischer Behandlung (Autoklavierung bei 121°C).

Im einzelnen sind dies die erfindungsgemäßen Peptide mit der folgenden Aminosäuresequenz sowie Peptide oder Proteine, die diese Aminosäuresequenz enthalten,

- 20 $R^1\text{-X01-X02-X03-X04-X05-X06-X07-X08-X09-X10-X11-X12-X13-R}^2$,

wobei R^1 , R^2 sowie X01 bis X013 die folgende Bedeutung haben:

R^1 = Amino-, Acetyl- sowie Spacer/Linker, oder Deletion

X01 = A, D, E, G, Deletion

- 25 X02 = C, S, D, E, Diaminobuttersäure (Dab), Diaminopropionsäure (Dpr), K, Ornithin (Orn),

X03 = A, S, T

X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, W, Y

- 6 -

X05 = H

X06 = G, H, K, L, M, N, Q, R

X07 = D, G

X08 = D, H, K, M, N, Q, R

5 X09 = K, L, R

X10 = V

X11 = W

X12 = C, S, D, E, Diaminobuttersäure (Dab), Diaminopropionsäure (Dpr), K, Ornithin (Orn),

10 X13 = D, E, K, Q, R, S, T, Deletion

R^2 = -COOH, -Amid, -GK, -GKK, -(BA)GK, -(BA)GKK, -(BA)(BA), -(BA)(BA)K sowie Spacer/Linker, oder Deletion.

15 Die erfindungsgemäßen Peptide können insbesondere in linearer sowie zyklischer Form vorliegen, wobei der Peptidringschluss bei Anwesenheit von zwei Cysteinen über Disulfidbrückenbildung oder über eine Amidzyklisierung erfolgt, die gegebenenfalls über Seitenketten, über den C- und N-Terminus oder über eine Kombinationen beider Möglichkeiten erfolgt.

Erfindungsgemäß bevorzugt werden die folgenden Peptide,

20 R1-ACAWHLGKLVWCT-R2

R1-ECAWHLGKLVWCT-R2

R1-GCAWHLGKLVWCT-R2

R1--CAWHLGKLVWCT-R2

25 mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den Peptidpositionen wie folgt,

X02 = S

- 7 -

X03 = S, T

X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y

X06 = G, H, K, M, N, Q, R

X07 = D

5 X08 = D, H, M, N, Q, R

X09 = K, R

X12 = S

X13 = D, E, K, Q, R, S, Deletion

oder

10 R1-DSAWHLGKLVWCT-R2

mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den
Peptidpositionen wie folgt,

X01 = A, E, G, Deletion

X03 = S, T

15 X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y

X06 = G, H, K, M, N, Q, R

X07 = D

X08 = D, H, M, N, Q, R

X09 = K, R

20 X12 = S

X13 = D, E, K, Q, R, S, Deletion

oder

R1-DCSWHLGKLVWCT-R2

R1-DCTWHLGKLVWCT-R2

- 8 -

mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den Peptidpositionen wie folgt,

X01 = A, E, G, Deletion

X02 = S

5 X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y

X06 = G, H, K, M, N, Q, R

X07 = D

X08 = D, H, M, N, Q, R

X09 = K, R

10 X12 = S

X13 = D, E, K, Q, R, S, Deletion,

oder

R1-DCAEHLGKLVWCT-R2

R1-DCAFHLGKLVWCT-R2

15 R1-DCAHHLGKLVWCT-R2

R1-DCAKHLGKLVWCT-R2

R1-DCAMHLGKLVWCT-R2

R1-DCARHLGKLVWCT-R2

R1-DCASHLGKLVWCT-R2

20 R1-DCATHLGKLVWCT-R2

R1-DCAVHLGKLVWCT-R2

R1-DCAWHLGKLVWCT-R2

R1-DCAYHLGKLVWCT-R2

25 mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den Peptidpositionen wie folgt,

- 9 -

X01 = A, E, G, Deletion

X02 = S

X03 = S, T

X06 = G, H, K, M, N, Q, R

5 X07 = D

X08 = D, H, M, N, Q, R

X09 = K, R

X12 = S

X13 = D, E, K, Q, R, S, Deletion,

10 oder

R1-DCAWHDGKLVWCT-R2

R1-DCAWHEGKLVWCT-R2

R1-DCAWHGGKLVWCT-R2

R1-DCAWHHGKLVWCT-R2

15 R1-DCAWHKGKLVWCT-R2

R1-DCAWHMGKLVWCT-R2

R1-DCAWHNGKLVWCT-R2

R1-DCAWHQGKLVWCT-R2

R1-DCAWHRGKLVWCT-R2

20 mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den
Peptidpositionen wie folgt,

X01 = A, E, G, Deletion

X02 = S

X03 = S, T

25 X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y

- 10 -

X07 = D

X08 = D, H, M, N, Q, R

X09 = K, R

X12 = S

5 X13 = D, E, K, Q, R, S, Deletion,

oder

R1-DCAWHLDKLVWCT-R2

mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den
Peptidpositionen wie folgt,

10 X01 = A, E, G, Deletion

X02 = S

X03 = S, T

X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y

X06 = G, H, K, M, N, Q, R

15 X08 = D, H, M, N, Q, R

X09 = K, R

X12 = S

X13 = D, E, K, Q, R, S, Deletion

oder

20 R1-DCAWHLGDLVWCT-R2

R1-DCAWHLGHLVWCT-R2

R1-DCAWHLGKLVWCT-R2

R1-DCAWHLGMLVWCT-R2

R1-DCAWHLGNLVWCT-R2

25 R1-DCAWHLGQLVWCT-R2

- 11 -

R1-DCAWHLGRLVWCT-R2

mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den Peptidpositionen wie folgt,

	X01	=	A, E, G, Deletion
5	X02	=	S
	X03	=	S, T
	X04	=	E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y
	X06	=	G, H, K, M, N, Q, R
	X07	=	D
10	X09	=	K, R
	X12	=	S
	X13	=	D, E, K, Q, R, S, Deletion,

oder

R1-DCAWHLGKKVWCT-R2

15 R1-DCAWHLGKRVWCT-R2

mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den Peptidpositionen wie folgt,

	X01	=	A, E, G, Deletion
	X02	=	S
20	X03	=	S, T
	X04	=	E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y
	X06	=	G, H, K, M, N, Q, R
	X07	=	D
	X08	=	D, H, M, N, Q, R
25	X12	=	S

- 12 -

X13 = D, E, K, Q, R, S, Deletion,
oder

R1-DCAWHLGKLVWST-R2

mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den
5 Peptidpositionen wie folgt,

X01 = A, E, G, Deletion

X02 = S

X03 = S, T

X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y

10 X06 = G, H, K, M, N, Q, R

X07 = D

X08 = D, H, M, N, Q, R

X09 = K, R

X13 = D, E, K, Q, R, S, Deletion

15 oder

R1-DCAWHLGKLVWCD-R2

R1-DCAWHLGKLVWCE-R2

R1-DCAWHLGKLVWCK-R2

R1-DCAWHLGKLVWCQ-R2

20 R1-DCAWHLGKLVWCR-R2

R1-DCAWHLGKLVWCS-R2

R1-DCAWHLGKLVWC--R2

mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den
Peptidpositionen wie folgt,

25 X01 = A, E, G, Deletion

- 13 -

X02 = S
X03 = S, T
X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y
X06 = G, H, K, M, N, Q, R
5 X07 = D
X08 = D, H, M, N, Q, R
X09 = K, R
X12 = S

wobei

10 R1 = Amino-, Acetyl- sowie Spacer/Linker,

R2 = -COOH, -Amid, -GK, -GKK, -(BA)GK, -(BA)GKK, -(BA)(BA), -(BA)(BA)K
sowie Spacer/Linker sein kann, gegebenenfalls die Cysteine in Position X02
und X12 für einen Ringschluss über Disulfidbrückenbildung verwendet werden,
oder die Cysteine in Position X02 und X12 durch Dpr oder Dab oder K oder Orn
15 für X02 in Kombination mit D oder E für X12 ersetzt sind und für eine
Amidzyklisierung über die Seitenketten verwendet werden,

oder die Cysteine in Position X02 und X12 durch D oder E für X02 in
Kombination mit Dpr oder Dab oder K oder Orn für X12 ersetzt sind und für
eine Amidzyklisierung über die Seitenketten verwendet werden,

20 oder bei R2 = COOH die Position X02 Dpr oder Dab, oder K oder Orn ist und
deren Seitenkette mit der C-terminalen Aminosäure über eine
Amidzyklisierung einen Ringschluss bildet,

oder bei R1 = NH₂ die Position X12 E oder D ist und deren Seitenkette mit der
N-terminalen Aminosäure über eine Amidzyklisierung einen Ringschluss bildet,

- 14 -

oder bei R1 = NH₂ und R2 = COOH die N-terminale und die C-terminale Aminosäure des Peptids für einen Ringschluss über Amidbildung verwendet wird,

und gegebenenfalls vorhandene Lysine, die nicht für einen Ringschluss verwendet werden, über Spacer/Linker derivatisiert sein können.

Des Weiteren werden Peptide erfindungsgemäß bevorzugt, die die folgenden Peptidsequenzen aufweisen und die linear oder gegebenenfalls über N- und C-Terminus des Peptids über eine Amidbindung zyklisiert sein können:

10

R1--CAWHLGKLVWCT-R2

R1-DCAWHLGKLVWC--R2

R1--CAWHLGKLVWC--R2

R1-DCSWHLGKLVWCT-R2

15 R1-DCAWHHGKLVWCT-R2

R1-DCAWHQGKLVWCT-R2

R1-DCAWHGGKLVWCT-R2

R1-DCAWHGGKLVWCT-R2

R1-DCAWHGGHLVWCT-R2

20 R1-DCAWHGGKLVWCE-R2

wobei R1 = Amino-, Acetyl-

R2 = -COOH, -Amid, -GK, -GKK, -(BA)GK, -(BA)GKK, -(BA)(BA), -(BA)(BA)K ist,

R1-DCAWHLGKLVWCT-R2

25 R1-DCAWHQGKLVWCT-R2

- 15 -

R1-DCAYHLGKLVWCT-R2

R1-DCSWHLGKLVWCT-R2

R1-DCAYHQGKLVWCT-R2

R1-DCSWHQGKLVWCT-R2

5 R1-DCSYHLGKLVWCT-R2

R1-DCSYHQGKLVWCT-R2

R1--CAWHLGKLVWCT-R2

R1--CAWHQGKLVWCT-R2

10 R1--CAYHLGKLVWCT-R2

R1--CSWHLGKLVWCT-R2

R1--CAYHQGKLVWCT-R2

R1--CSWHQGKLVWCT-R2

R1--CSYHLGKLVWCT-R2

15 R1--CSYHQGKLVWCT-R2

R1-DCAWHLGKLVWC--R2

R1-DCAWHQGKLVWC--R2

R1-DCAYHLGKLVWC--R2

20 R1-DCSWHLGKLVWC--R2

R1-DCAYHQGKLVWC--R2

R1-DCSWHQGKLVWC--R2

R1-DCSYHLGKLVWC--R2

R1-DCSYHQGKLVWC--R2

25

- 16 -

R1--CAWHLGKLVWC--R2

R1--CAWHQGKLVWC--R2

R1--CAYHLGKLVWC--R2

R1--CSWHLGKLVWC--R2

5 R1--CAYHQGKLVWC--R2

R1--CSWHQGKLVWC--R2

R1--CSYHLGKLVWC--R2

R1--CSYHQGKLVWC--R2

wobei

10 R1 = Acetyl-

R2 = -COOH, -Amid ist,

gegebenenfalls die Cysteine in Position X02 und X12 für einen Ringschluss über Disulfidbrückenbildung verwendet werden,

15 oder die Cysteine in Position X02 und X12 durch Dpr oder Dab oder K oder Orn für X02 in Kombination mit D oder E für X12 ersetzt sind und für eine Amidzyklisierung über die Seitenketten verwendet werden,

oder die Cysteine in Position X02 und X12 durch D oder E für X02 in Kombination mit Dpr oder Dab oder K oder Orn für X12 ersetzt sind und für eine Amidzyklisierung über die Seitenketten verwendet werden.

20

Die genannten erfindungsgemäßen Peptide binden Immunglobuline oder Antigen-Immunglobulin-Komplexe in biologischen Flüssigkeiten.

25 Erfindungsgemäß beansprucht werden auch feste Phasen für die Affinitätschromatographie oder Festphasenextraktion aus organischen,

anorganischen, synthetischen Polymeren oder aus Mischpolymeren, vorzugsweise quervernetzte Agarose, Cellulose, Kieselgel, Polyamid und Polyvinylalkohole, die gegebenenfalls chemisch aktiviert werden, mit an der Oberfläche der festen Phase immobilisierten erfindungsgemäßen Peptiden.

5

Bei den erfindungsgemäßen festen Phasen sind die Peptide vorzugsweise kovalent oder durch Adsorption an die feste Trägerphase gebunden. Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen festen Phasen sind die Peptide von der Trägersoberfläche über Linker/Spacer beabstandet.

- 10 Um die erfindungsgemäßen Peptide an feste Phasen zu koppeln, werden diese vorzugsweise mit einem Linker/Spacer versehen. Vorzugsweise ist der Linker/Spacer ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

Carbonsäuren und deren Derivate, Hydroxycarbonsäuren und deren Derivate, Oligoalkoxyderivate und deren Oligomere, α -Aminocarbonsäuren sowie deren
15 Homo- und Heterooligomere, α,ω -Aminocarbonsäuren sowie deren verzweigte Homo- und Heterooligomere, sonstige Aminosäuren sowie deren lineare und verzweigte Homo- und Heterooligomere, Amino-oligoalkoxy-alkylamine und deren lineare und verzweigte Homo- und Heterooligomere, Maleinimidocarbonsäure und deren Derivate, Oligomere von Alkylaminen,
20 4-Alkylphenyl-Derivate, 4-Oligoalkoxyphenyl- und 4-Oligoalkoxyphenoxy-Derivate, Oligoalkylmercaptophenyl- und 4-Oligoalkylmercaptophenoxy-Derivate, 4-Oligoalkylaminphenyl- und 4-Oligoalkylaminophenoxy-Derivate, (Oligoalkylbenzyl)-phenyl- bzw. 4-(Oligoalkylbenzyl)-phenoxy-Derivate sowie 4-(Oligoalkoxy-benzyl)-phenyl- bzw. 4-(Oligoalkoxybenzyl)-phenoxy-Derivate,
25 Trityl-Derivate, Benzyloxyaryl- und Benzyloxyalkyl-Derivate, Xanthen-3-yl-oxyalkyl-Derivate, ω -(4-Alkylphenyl)- bzw. ω -(4-Alkylphenoxy)-alkansäure-Derivate, Oligoalkyl-phenoxyalkyl- bzw. Oligoalkoxy-phenoxyalkyl-Derivate, Carbamat-Derivate, Amine, Trialkylsilyl- und Dialkyl-alkoxysilyl-Derivate, Alkyl- bzw. Aryl-Derivate, Thiole und deren Derivate, Thioether und deren Derivate,
30 Thiocarbonsäuren und deren Derivate, Thiolcarbonsäuren und deren Derivate,

Sulfonsäuren und deren Derivate sowie Kombinationen aus den aufgeführten Linkern oder Spacern.

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Adsorption von
5 Immunglobulinen an einer festen Phase, wobei die erfindungsgemäßen Peptide
an eine für die Affinitätschromatographie übliche feste Phase oder an mobile
feste Phasen gebunden werden, und die zu adsorbierenden
immunglobulinhaltigen Proben insbesondere mit den erfindungsgemäßen
festen Phasen in Kontakt gebracht werden.

10

Vorzugsweise wird ein Verfahren zur Adsorption von Immunglobulinen an einer
festen Phase durchgeführt, wobei die erfindungsgemäßen Peptide an eine für
die Affinitätschromatographie übliche feste Phase oder an mobile feste Phasen
gebunden werden, und die zu adsorbierenden immunglobulinhaltigen Proben
15 mit Antikoagulantien behandeltes humanes Blutplasma oder humanes Vollblut
sind und mit den erfindungsgemäßen festen Phasen gebracht werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren eignet sich insbesondere zur Adsorption von
Immunglobulinen aus immunglobulinhaltigen Proben, die Autoantikörper
20 enthalten, die mit Autoimmunerkrankungen, insbesondere rheumatischen
Erkrankungen, Multiple Sklerose, Myasthenia gravis sowie andere
Autoantikörper-vermittelte Erkrankungen, assoziiert sind.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird vorteilhafterweise mit einer
25 erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Entfernung von Immunglobulinen aus
immunglobulinhaltigen Proben an festen Phasen durchgeführt, wobei die
Vorrichtung eine erfindungsgemäße feste Phase enthält und Einrichtungen zum
Einlass von immunglobulinhaltigen Proben vorgesehen sind.

Gegenstand der Erfindung ist auch eine Verwendung der erfindungsgemäßen Peptide, der erfindungsgemäßen festen Phasen sowie der erfindungsgemäßen Vorrichtungen zur Entfernung von Immunglobulinen aus immunglobulinhaltigen Proben.

- 5 Die Erfindung wird an Hand der folgenden Beispiele näher erläutert.

Beispiel 1

Peptidimmobilisierung auf Cellulosematrix und Test auf Immunglobulinbindung

10

1. Trägergebundene Synthese von 13-mer Peptidvarianten

Peptide bestehend aus 13 Aminosäuren wurden mittels Festphasensynthese (Houghten, 1985) an einer Cellulosematrix mit (BA)(BA) als Spacergruppierung synthetisiert.

- 15 Ausgehend von

R1-X01-X02-X03-X04-X05-X06-X07-X08-X09-X10-X11-X12-X13-R2

- D - C - A - W - H - L - G - E - L - V - W - C - T -

R1 = Amino-

R2 = (BA)(BA), wobei BA = β -Alanin

- 20 wurden festphasenimmobilisierte Peptidvarianten synthetisiert wie in Tabelle 1 beschrieben.

2. Test der 13-mer Peptidvarianten auf Immunglobulin-Bindung

- 25 Die immobilisierten Peptide wurden auf ihre Bindungsfähigkeit von Immunglobulin durch Inkubation mit humanem IgG-Fc in gepufferter Lösung und durch Inkubation mit Humanplasma getestet.

- 20 -

Hierzu wurden die festphasenimmobilisierten Peptidvarianten mit T-TBS-Puffer (136 mM NaCl, 1,6 mM KCl, 0,05% (v/v) Tween 20, 50 mM Tris-HCl pH 8,0) gewaschen und anschließend mit Blockierungspuffer (5% (w/v) Saccharose, 4% (w/v) Rinderserumalbumin in T-TBS) behandelt. Die Inkubation der immobilisierten Peptide mit IgG-Fc (1 µg/ml) in Blockierungspuffer und
5 Humanserum (1:10.000 verdünnt in Blockierungspuffer) erfolgte für 3 h bei Raumtemperatur. Zur Überprüfung der Spezifität der Bindung wurde gepufferte Serumalbumin-Lösung (Blockierungspuffer) ohne Zusatz als Kontrolle mitgeführt. Danach wurden die festphasenimmobilisierten Peptid-
10 varianten noch dreimal mit T-TBS-Puffer gewaschen.

Nach Inkubation mit Alkalischer-Phosphatase-konjugiertem anti-Human IgG Antikörper (1,2 µg/ml) in Blockierungspuffer erfolgte die Detektion der Immunglobulinbindung anschließend mittels NBT (Nitroblautetra-
zolumchlorid)/BCIP (5-Brom-4-Chlor-3-indolyl-phosphat, Toluidin-Salz) als
15 Substrat (200 µl Stammlösung (18,75 mg/ml NBT und 9,4 mg/ml BCIP in 67% (v/v) DMSO) in 10 ml Entwicklungspuffer (100 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl₂ pH 9,5)).

Die Ergebnisse der Tests auf Immunglobulinbindung sind in Tabelle 1 dargestellt.

Beispiel 2

Peptide immobilisiert auf Agarose-Beads mit Glu (E) im Vergleich zu Lys (K) in Peptidposition X08 (s.o.) und Test der Immunglobulin-Bindung aus Humanplasma

1. Immobilisierung

Zur Immobilisierung an einer festen Phase wurden die Peptide zu einer Konzentration von 1 mg/ml in Kopplungspuffer (30 % (v/v) Acetonitril, 0,5 M NaCl, 0,1 M NaHCO₃ pH 8,3) gelöst und mit gewaschener und CNBr-
30 voraktivierter Sepharose 4B im Volumenverhältnis 10 : 1 gemischt. Nach

- 21 -

Beendigung der Kopplungsreaktion wurden die Peptidmatrizes mit Kopplungspuffer gewaschen und die überschüssigen CNBr-Gruppen durch Inkubation der Matrix in Tris-Puffer (100 mM Tris-HCl, 500 mM NaCl pH 8,0) inaktiviert.

- 5 Die Peptidbeladung der Matrizes wurde photometrisch (A_{280nm}) durch Differenzbildung der eingesetzten Peptidmasse vor und der nicht-immobilisierten Peptidmasse nach der Kopplung bestimmt.

Die Ergebnisse der Peptidbeladungen sind in Tabelle 2 dargestellt.

10 Immobilisierte Peptide:

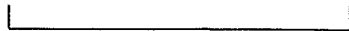
A Lineare Peptide

A1 Acetyl- D-S-A-W-H-L-G-E-L-V-W-C-T -((BA)(BA)K)

15

B Peptide zyklisiert über Disulfidbrückenbindung

B1 Acetyl- D-C-A-E-H-L-G-E-L-V-W-C-T -((BA)(BA)K)



20 B2 Acetyl- --C-A-W-H-Q-G-E-L-V-W-C-- -((BA)GKK)



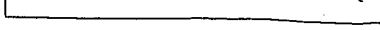
B3 Acetyl- D-C-A-W-H-L-G-K-L-V-W-C-T -amid



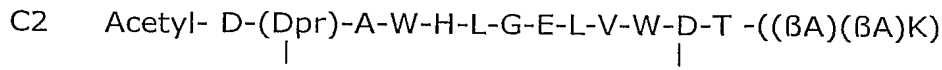
C Peptide zyklisiert über Seitenkettenamidbindung

25

C1 Acetyl- D-D-A-W-H-L-G-E-L-V-W-(Dpr)-T -((BA)(BA)K)



- 22 -



Dpr = Diaminopropionsäure

5 2. Immunglobulinbindung aus Humanplasma

Die Peptidmatrizes wurden mittels Affinitätschromatographie auf ihre Bindungskapazität und auf ihre Bindungsspezifität für Immunglobuline mit Humanplasma als Probe getestet. Hierzu wurden als Probe 6 Volumenanteile Humanplasma mit einer linearen Flussrate von 80 cm/h über 1
10 Säulenvolumenanteil Peptidmatrix geleitet.

Vor Probenauftrag wurde die Affinitätschromatographiesäule mit PBS pH 7,2 äquilibriert worden. Nach Probenauftrag wurde die Säule mit PBS pH 7,2 bis zur Erreichung der Adsorptionsbasislinie gespült und anschließend das gebundene Protein mit 30 mM Na-Citratpuffer pH 2,8 eluiert.

15 Die Konzentrationsbestimmung des eluierten Proteins erfolgte durch photometrische Messung der Adsorption bei 280 nm. Die Immunglobulinkonzentration wurde daraus mit $\epsilon_{280 \text{ nm}} = 1,35 \text{ cm}^2/\text{mg}$ für IgG berechnet.

Die Ergebnisse der Kapazitätsbestimmungen sind in Tabelle 2 dargestellt.

20 Die Spezifität der Immunglobulin-Peptidbindung wurde mittels SDS-PAGE ermittelt. Sie wurde mit der Spezifität für Immunglobulin von Protein A und anti-Immunglobulin G-Antikörpern verglichen.

Hierzu wurden die Eluate des jeweiligen Affinitätschromatographielaufs (wie oben beschrieben) unter reduzierenden Bedingungen für die SDS-PAGE
25 aufbereitet.

Die Ergebnisse der Spezifitätsprüfung sind in Fig. 1 dargestellt.

Beispiel 3

Glu (E) im Vergleich zu Lys (K) in Peptidposition X08 (s.o.):
Peptidimmobilisierung auf Agarose-Beads und Test der Immunglobulin-
Bindung aus Humanplasma vor und nach thermischer Behandlung

5 1. Immobilisierung

Zur Immobilisierung an einer festen Phase wurden die Peptide zu einer
Konzentration von 1 mg/ml in Kopplungspuffer (30 % (v/v) Acetonitril, 0,5 M
NaCl, 0,1 M NaHCO₃ pH 8,3) gelöst und mit gewaschener und CNBr-
voraktivierter Sepharose 4B im Volumenverhältnis 10 : 1 gemischt. Nach
10 Beendigung der Kopplungsreaktion wurden die Peptidmatrizes mit Kopplungs-
puffer gewaschen und die überschüssigen CNBr-Gruppen durch Inkubation der
Matrix in Tris-Puffer (100 mM Tris-HCl, 500 mM NaCl pH 8,0) inaktiviert.

Die Peptidbeladung der Matrizes wurde photometrisch (A280nm) durch
Differenzbildung der eingesetzten Peptidmasse vor und der nicht-
15 immobilisierten Peptidmasse nach der Kopplung bestimmt.

Immobilisierte Peptide:

Alle genannten Peptide sind über Disulfidbrückenbindung zyklisiert.

20 MF0147 NH₂- D-C-A-E-H-L-G-E-L-V-W-C-T -amid
| |

Immobilisierung über den Aminoterminus.

MF0146 Acetyl- C-S-W-H-L-G-K-L-V-W-C -amid
25 | |

Immobilisierung über die ε-Aminogruppe des Lysins (K)

MF0143 Acetyl- C-A-W-H-L-G-K-L-V-W-C-T -amid
| |

Immobilisierung über die e-Aminogruppe des Lysins (K)

2. Immunglobulinbindung aus Humanplasma vor und nach Autoklavierung der Peptidmatrices

- 5 Die Peptidmatrices wurden vor und nach Autoklavierung bei 121°C für 20 min mittels Affinitätschromatographie auf ihre Bindungskapazität und auf ihre Bindungsspezifität für Immunglobuline mit Humanplasma als Probe getestet. Hierzu wurden als Probe 6 Volumenanteile Humanplasma mit einer linearen Flussrate von 80 cm/h über 1 Säulenvolumenanteil Peptidmatrix geleitet.
- 10 Vor Probenauftrag wurde die Affinitätschromatographiesäule mit PBS pH 7,2 equilibriert worden. Nach Probenauftrag wurde die Säule mit PBS pH 7,2 bis zur Erreichung der Adsorptionsbasislinie gespült und anschließend das gebundene Protein mit 30 mM Na-Citratpuffer pH 2,8 eluiert.

Die Konzentrationsbestimmung des eluierten Proteins erfolgte durch
15 photometrische Messung der Adsorption bei 280 nm. Die Immunglobulinkonzentration wurde daraus mit $\epsilon_{280 \text{ nm}} = 1,35 \text{ cm}^2/\text{mg}$ für IgG berechnet.

Die Ergebnisse der Kapazitätsbestimmungen sind in Tabelle 3 dargestellt.

- 20 Die Spezifität der Immunglobulin-Peptidbindung vor und nach Autoklavierung wurde mittels SDS-PAGE ermittelt.

Hierzu wurden die Eluate des jeweiligen Affinitätschromatographielaufs (wie oben beschrieben) unter reduzierenden Bedingungen für die SDS-PAGE aufbereitet.

- 25 Die Ergebnisse der Spezifitätsprüfung sind in Fig. 2 dargestellt.

- 25 -

Tabelle 1: Test von 248 Peptidvarianten (13-mere) auf Immunglobulin-Bindung

(A) Inkubation der festphasenimmobilisierten Peptidvarianten mit Serumalbumin als negative Kontrollprobe

5 (B) Inkubation der festphasenimmobilisierten Peptidvarianten mit Humanplasma als Probe

(C) Inkubation der festphasenimmobilisierten Peptidvarianten mit humanem IgG-Fc als Probe

10 Die Detektion der Bindung von Immunglobulinen an die festphasenimmobilisierten Peptidvarianten erfolgte mittels Alkalischer-Phosphatase-konjugiertem anti-Human IgG Antikörper.

Erste Zeile: Ein-Buchstaben-Code für die ausgetauschte Aminosäure

Erste Spalte: Sequenzposition der ausgetauschten Aminosäure

15

Keine Bindung von Immunglobulin bei vorgegebener Peptidvariante, Detektion negativ: 0

Bindung von Immunglobulin bei vorgegebener Peptidvariante, Detektion positiv: +

20

25

(A) Ergebnis bei Inkubation mit Serumalbumin:

	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y
01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

- 27 -

(B) Ergebnis bei Inkubation mit Humanplasma:

	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y
01	+	0	+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
02	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
03	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0
04	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	+	+	+	+	+	+
05	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
06	0	0	0	0	0	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	0	0	0	0
07	0	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
08	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	0	0	0
09	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
12	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+	0	0	0

(C) Ergebnis bei Inkubation mit human IgG-Fc:

5

	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y
01	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0
02	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
03	+	0	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	+	0	+	+	0	0	0
04	0	0	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+
05	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
06	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0	0	0
07	0	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
08	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	0	0	0
09	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	0	+	+	+	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0
11	0	0	0	0	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
12	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	+	0	0	0

Tabelle 2: Bindungskapazität der Peptidmatrizes für Immunglobuline

Beladung: mg immobilisiertes Peptid/ ml Matrix [mg/ml].

- 5 Volumenkapazität: mg gebundenes Protein / ml Peptidmatrix; [mg/ml].

Relative Kapazität: mg gebundenes Protein / mg Peptidmatrixbeladung; [mg/mg].

Peptidmatrix	Beladung	Volumenkapazität	Rel. Kapazität
A1	8,8	4,70	0,53
B1	8,2	1,18	0,14
B2	8,5	5,87	0,69
B3	7,7	10,7	1,40
C1	8,0	1,74	0,22
C2	8,8	1,50	0,17

Fig. 1: Spezifität der Immunglobulin-Peptidbindung

Die Spezifität der Immunglobulin-Peptidbindung (A) wurde im SDS-PAGE mit der Spezifität der Immunglobulin-Protein A-Bindung (Prot. A) und mit der Spezifität der Bindung von Human-IgG mit einem Huhn-IgY-anti Human-IgG Antikörper (AK1) bzw. einem Schaf-IgG-anti Human-IgG Antikörper (AK2) verglichen (B) sowie mit der Spezifität der Immunglobulin-Peptid RTY-Bindung, (Acetyl-(RTY)BA)₂KGKK-amid abgeleitet von Fassina et al.(1996) und der Spezifität der Immunglobulin-Peptid K1- bzw. K2-Bindung, wobei K1 Acetyl-FGRLVSSIRY(BA)(BA)K-amid ist und K2 Acetyl-TWKTSRISIF(BA)(BA)K-amid ist, abgeleitet von Krook et al. (1998) (C).

(A)

Marker: Marker für die molekularen Masse, in kDa.

HP: Humanplasmprobe, 10 µl Probe 1:200 in PBS vorverdünnt.

15 IgG: Humanes Immunglobulin G, 1,25 µg.

Lineare Peptide

A1: Eluat von der Peptidmatrix A1, 10 µl Probe

20

Peptide zyklisiert über Disulfidbrückenbindung

B1: Eluat von der Peptidmatrix B1, 10 µl Probe

B2: Eluat von der Peptidmatrix B2, 10 µl Probe

B3: Eluat von der Peptidmatrix B3, 10 µl Probe

25

Peptide zyklisiert über Seitenkettenamidbindung

- 31 -

C1: Eluat von der Peptidmatrix C1, 10 µl Probe

C2: Eluat von der Peptidmatrix C2, 10 µl Probe

(B)

5 Ak1: Eluat von der Antikörpermatrix 1, 10 µl Probe

Ak2: Eluat von der Antikörpermatrix 2, 10 µl Probe

Prot. A: Eluat von der Protein A-Matrix, 10 µl Probe

(C)

10 RTY: Eluat von der Peptidmatrix RTY, 10 µl Probe

K1: Eluat von der Peptidmatrix K1, 10 µl Probe

K2: Eluat von der Peptidmatrix K2, 10 µl Probe

Die SDS-PAGE Probenvorbereitung erfolgte unter reduzierten Bedingungen.

15

Tabelle 3: Bindungskapazität der Peptidmatrizes für Immunglobuline vor und nach Autoklavierung

Peptidmatrix	Rel. Kapazität vor Autoklavierung	[%]	Rel. Kapazität nach Autoklavierung	[%]	Relative Restkapazität bezogen auf MF147
MF0147	5,11	100	0,72	14	100%
MF0146	3,48	100	1,88	54	386%
MF0143	2,85	100	1,85	65	464%

20 Relative Kapazität: mg gebundenes Protein / mg Peptidmatrixbeladung;
[mg/mg].

Fig. 2: Spezifität der Immunglobulin-Peptidbindung vor und nach Autoklavierung

Marker: Marker für die molekulare Masse, in kDa.

5 IgG: Humanes Immunglobulin G, 1,25 µg.

147, 146, 143: Eluat der jeweiligen Peptidmatrix vor Autoklavierung,
jeweils 10 µl Probe

121°C: Eluat nach Autoklavierung der Matrix bei 121°C für 20 min,
jeweils 10 µl Probe

10

SDS-PAGE Probenvorbereitung erfolgte unter reduzierenden Bedingungen.

Literatur

Davies DR, Metzger H. Structural basis of antibody function. Annu Rev Immunol 1983;1:87-117

5

Alt FW, Blackwell TK, Yancopoulos GD Development of the primary antibody repertoire. Science 1987 Nov 20;238(4830):1079-87

McKenzie SE, Schreiber AD. Biological advances and clinical applications of Fc receptors for IgG. Curr Opin Hematol 1994 Jan;1(1):45-52

10

Makiya R, Stigbrand T., Placental alkaline phosphatase as the placental IgG receptor. Clin Chem 1992 Dec;38(12):2543-5

15 Sarfati M, Fournier S, Wu CY, Delespesse G., Expression, regulation and function of human Fc epsilon RII (CD23) antigen. Immunol Res. 1992;11(3-4):260-72

Capron M, Truong MJ, Aldebert D, Gruart V, Suemura M, Delespesse G,
20 Tourvieille B, Capron A., Eosinophil IgE receptor and CD23 Immunol Res.
1992;11(3-4):252-9

Shen L, Receptors for IgA on phagocytic cells. Immunol Res. 1992;11(3-4):273-82. Review.

25

- 34 -

Sandor M, Ibraghimov A, Rosenberg MG, Teeraratkul P, Lynch RG, Expression of IgA and IgM Fc receptors on murine T lymphocytes. Immunol Res. 1992;11(3-4):169-80.

- 5 Miletic VD, Frank MM, Complement-immunoglobulin interactions. Curr Opin Immunol. 1995 Feb;7(1):41-7

Stahl S, Nygren PA, Sjolander A, Uhlen M, Engineered bacterial receptors in immunology. Curr Opin Immunol. 1993 Apr;5(2):272-7

10

Belak M, Borberg H, Jimenez C, Oette K, Technical and clinical experience with protein A immunoabsorption columns. Transfus Sci 1994 Dec;15(4):419-22

- 15 Samuelsson G, Immunoabsorption using the Excorim treatment system. Transfus Sci 1998 Mar;19 Suppl:3-4

- 20 Felson DT, LaValley MP, Baldassare AR, Block JA, Caldwell JR, Cannon GW, Deal C, Evans S, Fleischmann R, Gendreau RM, Harris ER, Matteson EL, Roth SH, Schumacher HR, Weisman MH, Furst DE, The Prosorba column for treatment of refractory rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, sham-controlled trial. Arthritis Rheum 1999 Oct;42(10):2153-9

- 25 Koll RA, Ig-Therasorb immunoabsorption for selective removal of human immunoglobulins in diseases associated with pathogenic antibodies of all classes and IgG subclasses, immune complexes, and fragments of immunoglobulins. Ther Apher 1998 May;2(2):147-52

- 35 -

Knobl P, Derfler K, Extracorporeal immunoadsorption for the treatment of haemophilic patients with inhibitors to factor VIII or IX. Vox Sang 1999;77 Suppl 1:57-64

- 5 Jimenez C, Rosenow F, Grieb P, Haupt WF, Borberg H, Adsorption therapy with tryptophan-conjugated polyvinyl alcohol gels in 10 patients with acute Guillain-Barre syndrome. Transfus Sci 1993 Jan;14(1):9-11

- 10 Fadul JE, Danielson BG, Wikstrom B, Reduction of plasma fibrinogen, immunoglobulin G, and immunoglobulin M concentrations by immunoadsorption therapy with tryptophan and phenylalanine adsorbents. Artif Organs 1996 Sep;20(9):986-90

- 15 Takamori M, Ide Y, Specific removal of anti-acetylcholine receptor antibodies in patients with myasthenia gravis. Transfus Sci 1996 Sep;17(3):445-53

Fassina G, Verdoliva A, Odierna MR, Ruvo M, Cassini G, Protein A mimetic peptide ligand for affinity purification of antibodies. J Mol Recognit 1996 Sep-Dec;9(5-6):564-9

20

Fassina G, Verdoliva A, Palombo G, Ruvo M, Cassani G, Immunoglobulin specificity of TG19318: a novel synthetic ligand for antibody affinity purification. J Mol Recognit 1998 Winter;11(1-6):128-33

- 25 DeLano WL, Ultsch MH, de Vos AM, Wells JA, Convergent solutions to binding at a protein-protein interface. Science 2000 Feb 18;287(5456):1279-83

Krook M, Mosbach K, Ramstrom O, Novel peptides binding to the Fc-portion of immunoglobulins obtained from a combinatorial phage display peptide library. J Immunol Methods 1998 Dec 1;221(1-2):151-7

- 5 Houghten RA, General method for the rapid solid-phase synthesis of large numbers of peptides: specificity of antigen-antibody interaction at the level of individual amino acids. Proc Natl Acad Sci U S A 1985 Aug;82(15):5131-5.

Patentansprüche

1. Peptide mit der folgenden Aminosäuresequenz,

R^1 -X01-X02-X03-X04-X05-X06-X07-X08-X09-X10-X11-X12-X13- R^2 ,

5 wobei R^1 , R^2 sowie X01 bis X013 die folgende Bedeutung haben:

R^1 = Amino-, Acetyl- sowie Spacer/Linker, oder Deletion

X01 = A, D, E, G, Deletion

X02 = C, S, D, E, Diaminobuttersäure (Dab), Diaminopropionsäure (Dpr), K, Ornithin (Orn),

10 X03 = A, S, T

X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, W, Y

X05 = H

X06 = E, G, H, K, L, M, N, Q, R

X07 = D, G

15 X08 = D, H, K, M, N, Q, R

X09 = K, L, R

X10 = V

X11 = W

20 X12 = C, S, D, E, Diaminobuttersäure (Dab), Diaminopropionsäure (Dpr), K, Ornithin (Orn),

X13 = D, E, K, Q, R, S, T, Deletion

R^2 = -COOH, -Amid, -GK, -GKK, -(BA)GK, -(BA)GKK, -(BA)(BA), -(BA)(BA)K sowie Spacer/Linker, oder Deletion.

25 2. Peptid nach Anspruch 1 in linearer sowie zyklischer Form, wobei der Peptidringschluss bei Anwesenheit von zwei Cysteinen über Disulfidbrückenbildung oder über eine Amidzyklisierung erfolgt, die

gegebenenfalls über Seitenketten, über den C- und N-Terminus oder über eine Kombinationen beider Möglichkeiten erfolgt.

3. Peptide nach Anspruch 1 und/oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass es sich
5 um

a) die folgenden Peptidsequenzen handelt,

R1-ACAWHLGKLVWCT-R2

R1-ECAWHLGKLVWCT-R2

R1-GCAWHLGKLVWCT-R2

10 R1--CAWHLGKLVWCT-R2

mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den Peptidpositionen wie folgt,

X02 = S

X03 = S, T

15 X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y

X06 = G, H, K, M, N, Q, R

X07 = D

X08 = D, H, M, N, Q, R

X09 = K, R

20 ☐ X12 = S

X13 = D, E, K, Q, R, S, Deletion

oder

R1-DSAWHLGKLVWCT-R2

25 mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den Peptidpositionen wie folgt,

X01 = A, E, G, Deletion

- 39 -

X03 = S, T

X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y

X06 = G, H, K, M, N, Q, R

X07 = D

5 X08 = D, H, M, N, Q, R

X09 = K, R

X12 = S

X13 = D, E, K, Q, R, S, Deletion

oder

10 R1-DCSWHLGKLVWCT-R2

R1-DCTWHLGKLVWCT-R2

mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den
Peptidpositionen wie folgt,

X01 = A, E, G, Deletion

15 X02 = S

X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y

X06 = G, H, K, M, N, Q, R

X07 = D

X08 = D, H, M, N, Q, R

20 X09 = K, R

X12 = S

X13 = D, E, K, Q, R, S, Deletion,

oder

R1-DCAEHLGKLVWCT-R2

25 R1-DCAFHLGKLVWCT-R2

- 40 -

R1-DCAHHLGKLVWCT-R2

R1-DCAKHLGKLVWCT-R2

R1-DCAMHLGKLVWCT-R2

R1-DCARHLGKLVWCT-R2

5 R1-DCASHLGKLVWCT-R2

R1-DCATHLGKLVWCT-R2

R1-DCAVHLGKLVWCT-R2

R1-DCAWHLGKLVWCT-R2

R1-DCAYHLGKLVWCT-R2

10 mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den
Peptidpositionen wie folgt,

X01 = A, E, G, Deletion

X02 = S

X03 = S, T

15 X06 = G, H, K, M, N, Q, R

X07 = D

X08 = D, H, M, N, Q, R

X09 = K, R

X12 = S

20 X13 = D, E, K, Q, R, S, Deletion,

oder

R1-DCAWHDGKLVWCT-R2

R1-DCAWHEGKLVWCT-R2

R1-DCAWHGGKLVWCT-R2

25 R1-DCAWHHGKLVWCT-R2

- 41 -

R1-DCAWHKGKLVWCT-R2

R1-DCAWHMGKLVWCT-R2

R1-DCAWHNGKLVWCT-R2

R1-DCAWHQGKLVWCT-R2

5 R1-DCAWHRGKLVWCT-R2

mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den
Peptidpositionen wie folgt,

X01 = A, E, G, Deletion

X02 = S

10 X03 = S, T

X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y

X07 = D

X08 = D, H, M, N, Q, R

X09 = K, R

15 X12 = S

X13 = D, E, K, Q, R, S, Deletion,

oder

R1-DCAWHLDKLVWCT-R2

20 mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den
Peptidpositionen wie folgt,

X01 = A, E, G, Deletion

X02 = S

X03 = S, T

X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y

25 X06 = G, H, K, M, N, Q, R

- 42 -

X08 = D, H, M, N, Q, R
X09 = K, R
X12 = S
X13 = D, E, K, Q, R, S, Deletion

5 oder

R1-DCAWHLGDLVWCT-R2

R1-DCAWHLGHVLWCT-R2

R1-DCAWHLGKLVWCT-R2

R1-DCAWHLGMLVWCT-R2

10 R1-DCAWHLGNLVWCT-R2

R1-DCAWHLGQLVWCT-R2

R1-DCAWHLGRLVWCT-R2

mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den
Peptidpositionen wie folgt,

15 X01 = A, E, G, Deletion
X02 = S
X03 = S, T
X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y
X06 = G, H, K, M, N, Q, R
20 X07 = D
X09 = K, R
X12 = S
X13 = D, E, K, Q, R, S, Deletion,

oder

25 R1-DCAWHLGKKVWCT-R2

- 43 -

R1-DCAWHLGKRVWCT-R2

mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den Peptidpositionen wie folgt,

	X01	=	A, E, G, Deletion
5	X02	=	S
	X03	=	S, T
	X04	=	E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y
	X06	=	G, H, K, M, N, Q, R
	X07	=	D
10	X08	=	D, H, M, N, Q, R
	X12	=	S
	X13	=	D, E, K, Q, R, S, Deletion,

oder

R1-DCAWHLGKLVWST-R2

15 mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den Peptidpositionen wie folgt,

	X01	=	A, E, G, Deletion
	X02	=	S
	X03	=	S, T
20	X04	=	E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y
	X06	=	G, H, K, M, N, Q, R
	X07	=	D
	X08	=	D, H, M, N, Q, R
	X09	=	K, R
25	X13	=	D, E, K, Q, R, S, Deletion

- 44 -

oder

R1-DCAWHLGKLVWCD-R2

R1-DCAWHLGKLVWCE-R2

R1-DCAWHLGKLVWCK-R2

5 R1-DCAWHLGKLVWCQ-R2

R1-DCAWHLGKLVWCR-R2

R1-DCAWHLGKLVWCS-R2

R1-DCAWHLGKLVWC--R2

10 mit maximal vier gleichzeitigen Aminosäureaustauschen in den
Peptidpositionen wie folgt,

X01 = A, E, G, Deletion

X02 = S

X03 = S, T

X04 = E, F, H, K, M, R, S, T, V, Y

15 X06 = G, H, K, M, N, Q, R

X07 = D

X08 = D, H, M, N, Q, R

X09 = K, R

X12 = S

20 wobei

R1 = Amino-, Acetyl- sowie Spacer/Linker,

R2 = -COOH, -Amid, -GK, -GKK, -(BA)GK, -(BA)GKK, -(BA)(BA), -(BA)(BA)K
sowie Spacer/Linker sein kann, gegebenenfalls die Cysteine in Position X02
und X12 für einen Ringschluss über Disulfidbrückenbildung verwendet werden,
25 oder die Cysteine in Position X02 und X12 durch Dpr oder Dab oder K oder Orn

- 45 -

für X02 in Kombination mit D oder E für X12 ersetzt sind und für eine Amidzyklisierung über die Seitenketten verwendet werden,

oder die Cysteine in Position X02 und X12 durch D oder E für X02 in Kombination mit Dpr oder Dab oder K oder Orn für X12 ersetzt sind und für
5 eine Amidzyklisierung über die Seitenketten verwendet werden,

oder bei R2 = COOH die Position X02 Dpr oder Dab, oder K oder Orn ist und deren Seitenkette mit der C-terminalen Aminosäure über eine Amidzyklisierung einen Ringschluss bildet,

oder bei R1 = NH2 die Position X12 E oder D ist und deren Seitenkette mit der
10 N-terminalen Aminosäure über eine Amidzyklisierung einen Ringschluss bildet,

oder bei R1 = NH2 und R2 = COOH die N-terminale und die C-terminale Aminosäure des Peptids für einen Ringschluss über Amidbildung verwendet wird,

und gegebenenfalls vorhandene Lysine, die nicht für einen Ringschluss
15 verwendet werden, über Spacer/Linker derivatisiert sein können.

4. Lineare sowie zyklische Peptide nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass es sich um die folgenden Peptidsequenzen handelt,

R1--CAWHLGKLVWCT-R2

20 R1-DCAWHLGKLVWC--R2

R1--CAWHLGKLVWC--R2

R1-DCSWHLGKLVWCT-R2

R1-DCAWHHGKLVWCT-R2

R1-DCAWHQGKLVWCT-R2

25 R1-DCAWHGGKLVWCT-R2

R1-DCAWHGGKLVWCT-R2

- 46 -

R1-DCAWHGGHLVWCT-R2

R1-DCAWHGGKLVWCE-R2

wobei R1 = Amino-, Acetyl-

5 R2 = -COOH, -Amid, -GK, -GKK, -(BA)GK, -(BA)GKK, -(BA)(BA), -(BA)(BA)K
ist,

R1-DCAWHLGKLVWCT-R2

R1-DCAWHQGKLVWCT-R2

R1-DCAYHLGKLVWCT-R2

R1-DCSWHLGKLVWCT-R2

10 R1-DCAYHQGKLVWCT-R2

R1-DCSWHQGKLVWCT-R2

R1-DCSYHLGKLVWCT-R2

R1-DCSYHQGKLVWCT-R2

15 R1--CAWHLGKLVWCT-R2

R1--CAWHQGKLVWCT-R2

R1--CAYHLGKLVWCT-R2

R1--CSWHLGKLVWCT-R2

R1--CAYHQGKLVWCT-R2

20 R1--CSWHQGKLVWCT-R2

R1--CSYHLGKLVWCT-R2

R1--CSYHQGKLVWCT-R2

R1-DCAWHLGKLVWC--R2

- 47 -

R1-DCAWHQGKLVWC--R2

R1-DCAYHLGKLVWC--R2

R1-DCSWHLGKLVWC--R2

R1-DCAYHQGKLVWC--R2

5 R1-DCSWHQGKLVWC--R2

R1-DCSYHLGKLVWC--R2

R1-DCSYHQGKLVWC--R2

R1--CAWHLGKLVWC--R2

10 R1--CAWHQGKLVWC--R2

R1--CAYHLGKLVWC--R2

R1--CSWHLGKLVWC--R2

R1--CAYHQGKLVWC--R2

R1--CSWHQGKLVWC--R2

15 R1--CSYHLGKLVWC--R2

R1--CSYHQGKLVWC--R2

wobei

R1 = Acetyl-

R2 = -COOH, -Amid ist,

20 gegebenenfalls die Cysteine in Position X02 und X12 für einen Ringschluss über Disulfidbrückenbildung verwendet werden,

oder die Cysteine in Position X02 und X12 durch Dpr oder Dab oder K oder Orn für X02 in Kombination mit D oder E für X12 ersetzt sind und für eine Amidzyklisierung über die Seitenketten verwendet werden,

- 48 -

oder die Cysteine in Position X02 und X12 durch D oder E für X02 in Kombination mit Dpr oder Dab oder K oder Orn für X12 ersetzt sind und für eine Amidzyklisierung über die Seitenketten verwendet werden.

5. Peptide nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass
5 die Peptide Immunglobuline oder Antigen-Immunglobulin-Komplexe in biologischen Flüssigkeiten binden.
6. Peptide nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass der Linker/Spacer aus der Gruppe ausgewählt wird, bestehend aus:
 - Carbonsäuren und deren Derivate
 - 10 - Hydroxycarbonsäuren und deren Derivate
 - Oligoalkoxyderivate und deren Oligomere
 - α -Aminocarbonsäuren sowie deren Homo- und Heterooligomere
 - α,ω -Aminocarbonsäuren sowie deren verzweigte Homo- und Heterooligomere
 - 15 - sonstige Aminosäuren sowie deren lineare und verzweigte Homo- und Heterooligomere
 - Amino-oligoalkoxy-alkylamine und deren lineare und verzweigte Homo- und Heterooligomere
 - Maleinimidocarbonsäure und deren Derivate
 - 20 - Oligomere von Alkylaminen
 - 4-Alkylphenyl-Derivate
 - 4-Oligoalkoxyphenyl- und 4-Oligoalkoxyphenoxy-Derivate
 - Oligoalkylmercaptophenyl- und 4-Oligoalkylmercaptophenoxy-Derivate
 - 4-Oligoalkylaminphenyl- und 4-Oligoalkylaminophenoxy-Derivate
 - 25 - (Oligoalkylbenzyl)-phenyl- bzw. 4-(Oligoalkylbenzyl)-phenoxy-Derivate sowie 4-(Oligoalkoxybenzyl)-phenyl- bzw. 4-(Oligoalkoxybenzyl)-phenoxy-Derivate

- 49 -

- Trityl-Derivate
 - Benzyloxyaryl- und Benzyloxyalkyl-Derivate
 - Xanthen-3-yl-oxyalkyl-Derivate
 - ω -(4-Alkylphenyl)- bzw. ω -(4-Alkylphenoxy)-alkansäure-Derivate
 - 5 - Oligoalkyl-phenoxyalkyl- bzw. Oligoalkoxy-phenoxyalkyl-Derivate
 - Carbamat-Derivate
 - Amine
 - Trialkylsilyl- und Dialkyl-alkoxysilyl-Derivate
 - Alkyl- bzw. Aryl-Derivate
 - 10 - Thiole und deren Derivate
 - Thioether und deren Derivate
 - Thiocarbonsäuren und deren Derivate
 - Thiolcarbonsäuren und deren Derivate
 - Sulfonsäuren und deren Derivate sowie
 - 15 Kombinationen aus den aufgeführten Linkern oder Spacern.
7. Feste Phasen für die Affinitätschromatographie oder Festphasenextraktion aus organischen, anorganischen, synthetischen Polymeren oder aus Mischpolymeren, vorzugsweise quervernetzte Agarose, Cellulose, Kieselgel, Polyamid und Polyvinylalkohole, die gegebenenfalls chemisch aktiviert
- 20 werden, mit an der Oberfläche der festen Phase immobilisierten Peptiden gemäss mindestens nach einem der Ansprüche 1 bis 6.
8. Feste Phasen nach Anspruch 7 wobei die Peptide kovalent oder durch Adsorption an die feste Trägerphase gebunden sind.
9. Feste Phasen nach Anspruch 7 oder 8, wobei die Peptide über K(Lys) an
- 25 Position X08 kovalent an die feste Phase gebunden sind.

10. Feste Phasen nach Anspruch 8 oder 9 wobei die Peptide von der Trägeroberfläche über Linker/Spacer beabstandet sind.
11. Verfahren zur Adsorption von Immunglobulinen an einer festen Phase, wobei die Peptide nach Anspruch 1 bis 3 an eine übliche feste Phase für die Affinitätschromatographie oder an mobile feste Phasen gebunden werden, und die zu adsorbierenden immunglobulinhaltigen Proben mit den festen Phasen gemäss Anspruch 7 bis 10 in Kontakt gebracht werden.
12. Verfahren zur Adsorption von Immunglobulinen an einer festen Phase, wobei die Peptide nach Anspruch 1 bis 6 an eine übliche feste Phase für die Affinitätschromatographie oder an mobile feste Phasen gebunden werden, und die zu adsorbierenden immunglobulinhaltigen Proben mit Antikoagulantien behandeltes humanes Blutplasma oder humanes Vollblut sind und mit den festen Phasen gemäss Anspruch 7 bis 10 in Kontakt gebracht werden.
13. Verfahren nach Anspruch 12 zur Adsorption von Immunglobulinen aus immunglobulinhaltigen Proben, die Autoantikörper enthalten, die mit Autoimmunerkrankungen, vorzugsweise rheumatoide Erkrankungen, Multiple Sklerose, Myasthenia gravis sowie andere Autoantikörpervermittelte Erkrankungen, assoziiert sind.
14. Vorrichtung zur Entfernung von Immunglobulinen aus immunglobulinhaltigen Proben an festen Phasen, wobei die Vorrichtung eine feste Phase gemäss einem der Ansprüche 7 bis 10 enthält und Einrichtungen vorgesehen sind zum Einlass von immunglobulinhaltigen Proben.
15. Verwendung von Peptiden nach einem der Ansprüche 1 bis 6, von festen Phasen nach einem der Ansprüche 7 bis 10 sowie Vorrichtungen nach Anspruch 14 zur Entfernung von Immunglobulinen aus immunglobulinhaltigen Proben.

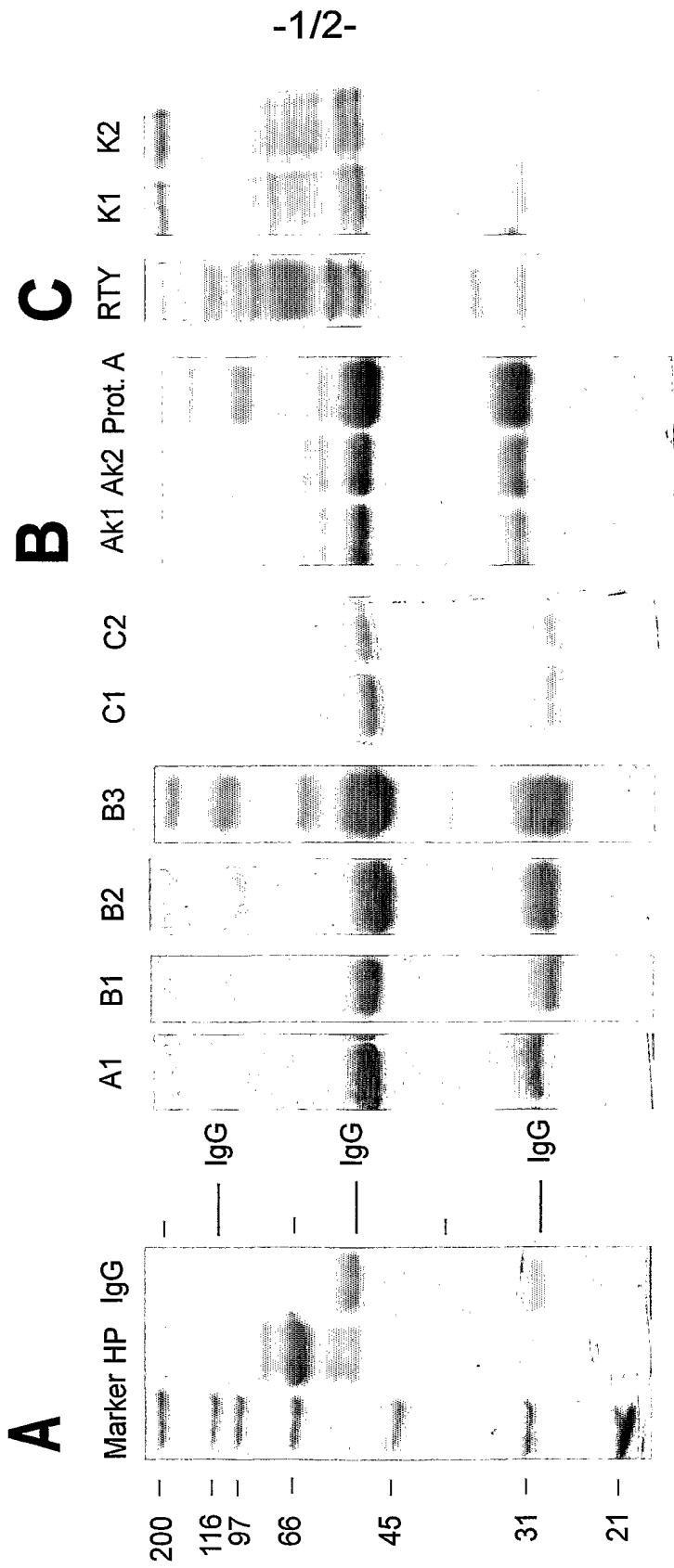


Fig.1

-2/2-

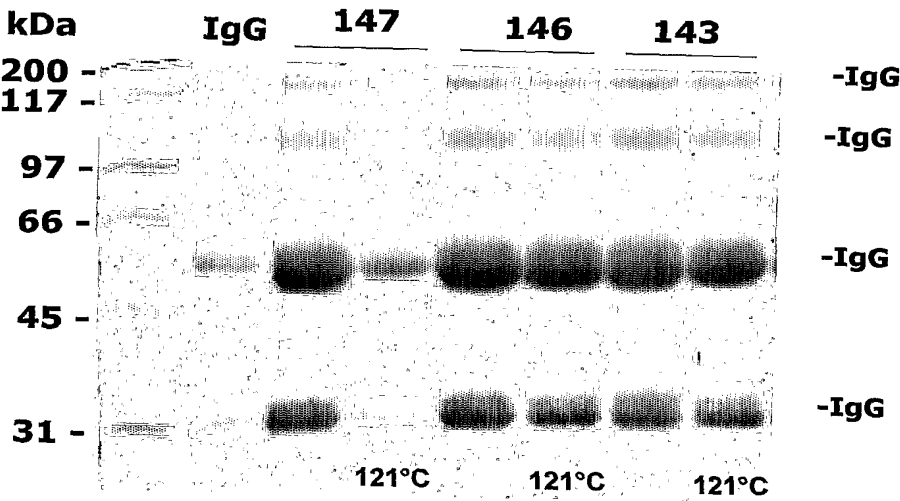


Fig.2